

氏 名	桑 村 光
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 5052 号
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 31 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項
学 位 論 文 名	Growth Inhibition of Colon Cancer Cells by Transfection of Dominant-Negative Apoptosis Signal-Regulating Kinase-1 (ASK)-1 (Apoptosis signal-regulating kinase (ASK)-1の大腸癌細胞増殖における役割について)
論文審査委員	主 査 教 授 岩 尾 洋 副 査 教 授 荒 川 哲 男 副 査 教 授 平 川 弘 聖

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】apoptosis関連物質であるapoptosis signal-regulating kinase (ASK)-1と、癌細胞増殖への関与を示唆する報告は認められない。そこで大腸癌細胞増殖におけるASK-1の役割を検討する目的として、ASK-1のdominant negative mutant (DN-ASK-1)を作成し、増殖への影響とその作用機序について検討した。

【方法】大腸癌細胞株:HT-29 cellsを使用し、細胞内ASK-1ならびにその下流シグナルであるJNK、p38MAP kinaseの活性化について、ウェスタンブロット法を用いて検討した。また、血清刺激時にDN-ASK-1を組み込んだadenovirus vector (Ad-DN-ASK-1)を添加後、細胞増殖に与える影響について、細胞数計測ならびにヘキスト染色を用いて検討した。一方HT-29細胞をヌードマウスの皮下に移植した後、Ad-DN-ASK-1を同部に局注し腫瘍増大抑制効果について検討した。

【結果】1. 血清刺激によるHT-29細胞増殖時に、kinase domainであるThr 845のASK-1のリン酸化を認めた。2. Ad-DN-ASK-1は、その下流に位置するJNK、p38MAP kinaseへのシグナル伝達を抑制した。3. Ad-DN-ASK-1は、用量依存的にHT-29細胞増殖を抑制し、アポトーシス細胞数を増加させた。4. Ad-DN-ASK-1は、皮下腫瘍組織容積を有意に抑制し、アポトーシス関連酵素であるcaspase 3を活性化させた。

【結論】ASK-1はHT-29細胞増殖に関与し、その活性化抑制はアポトーシス機序を介した増殖抑制を示した。Ad-DN-ASK-1を用いた遺伝子治療は、大腸癌に対する新たな治療戦略のひとつとなる可能性が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

【目的】apoptosis関連物質であるapoptosis signal-regulating kinase (ASK)-1の、癌細胞増殖への関与を示唆する報告は認められない。そこで大腸癌細胞増殖におけるASK-1の役割を検討する目的として、ASK-1のdominant negative mutant (DN-ASK-1)を作成し、増殖への影響とその作用機序について検討した。

【方法】大腸癌細胞株:HT-29 cellsを使用し、細胞内ASK-1ならびにその下流シグナルであるJNK、p38MAP kinaseの活性化について、ウェスタンブロット法を用いて検討した。また、血清刺激時にDN-ASK-1を組み込んだadenovirus vector (Ad-DN-ASK-1)を添加後、細胞増殖に与える影響について、細胞数計測ならびにヘキスト染色を用いて検討した。一方HT-29細胞をヌードマウスの皮下に移植した後、Ad-DN-ASK-1を同部に局注し腫瘍増大抑制効果について検討した。

【結果】1. 血清刺激によるHT-29細胞増殖時に、kinase domainであるThr 845のASK-1のリン酸化を認めた。2. Ad-DN-ASK-1は、その下流に位置するJNK、p38MAP kinaseへのシグナル伝達を抑制した。3. Ad-DN-ASK-1は、用

量依存的にHT-29細胞増殖を抑制し、アポトーシス細胞数を増加させた。4. Ad-DN-ASK-1は、皮下腫瘍組織容積を有意に抑制し、アポトーシス関連酵素であるcaspase3を活性化させた。

【結論】ASK-1はHT-29細胞増殖に関与し、Ad-DN-ASK-1による活性化抑制はアポトーシスを起こして増殖抑制を示した。Ad-DN-ASK-1を用いた遺伝子治療は、大腸癌に対する新たな治療戦略のひとつとなる可能性が示唆された。

本論文は、大腸癌細胞増殖におけるASK-1の役割を検討し、ASK-1の下流に位置するJNK、p38MAP kinaseへのシグナル伝達を抑制してアポトーシス細胞数を増加させることにより大腸癌細胞増殖を抑制したことを示した。以上の研究成果は、大腸癌細胞の増殖過程の解明に寄与するものであり、著者は博士（医学）の学位を授与されるに値するものと判定された。